

УДК:616.127-092.9-08:615.33

О. Г. Родинський, Ю. В. Козлова, Л. В. Гузь

ДИНАМІКА ПАТОЛОГІЧНИХ ЗМІН СТРУКТУРИ МІОКАРДА ЩУРІВ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ДОКСОРУБІЦИНА

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

Кафедра фізіології (зав. каф. – проф., д.мед.н. О. Г. Родинський)

м.Дніпропетровськ, Україна

Резюме.

Ключові слова: доксорубіцин, міокард, щури.

О. Г. Родинський, Ю. В. Козлова, Л. В. Гузь. Динаміка патологічних змін структури міокарда щурів за умов введення доксорубіцина.

У зв'язку з високою кардіотоксичністю доксорубіцин використовують для дослідження патогензу серцевої недостатності. З метою дослідження динаміки патологічних змін серця в експерименті в 30 щурів з доксорубіциновою кардіоміопатією та в 30 щурів контрольної групи досліджували ЕКГ, патоморфологічні та патогістологічні зміни міокарда. Нами встановлено, що незворотні ушкодження міокарду, що простежені нами в динаміці, а саме деструктивно-дегенеративні зміни кардіоміоцитів із втратою ними спеціалізованих ознак, внаслідок дії доксорубіцину мають не тільки локальний, але й дифузний характер, маркерами яких в функціональному аспекті є порушення автоматизму, провідності серця та швидко прогресуюча серцева недостатність.

Резюме.

Ключевые слова: доксорубицин, миокард, крысы

А. Г. Родинский, Ю. В. Козлова, Л. В. Гузь. Динамика патологических изменений структур миокарда крыс в условиях введения доксорубицина

В связи с высокой кардиотоксичностью доксорубицин используют для исследования патогенза сердечной недостаточности. С целью исследования динамики патологических изменений сердца в эксперименте у 30 крыс с доксорубициновой кардиомиопатией и у 30 крыс контрольной группы исследовали ЭКГ, патоморфологические и патогистологические изменения миокарда. Нами

установлено, що необратимые повреждения миокарда, прослеженные нами в динамике, а именно деструктивно-дегенеративные изменения кардиомиоцитов с потерей ими специализированных признаков, в результате действия доксорубина имеют не только локальный, но и диффузный характер, маркерами которых в функциональном аспекте является нарушение автоматизма, проводимости сердца и быстро прогрессирующая сердечная недостаточность.

Summary.

Keywords: doxorubicin, myocardium, rat

A. G. Rodinskij, Ju. V. Kozlova, L. V. Guz'. Dynamics of pathological changes of myocardial structures of rats under administration of doxorubicin

Due to the high cardiotoxicity of doxorubicin used to study pathogenesis heart failure. In order to study the dynamics of pathological changes in the heart of the experiment, 30 rats with doxorubicin cardiomyopathy and 30 rats in the control group investigated ECG, pathological and histopathological changes in the myocardium. We found that irreversible myocardial damage, we tracked the dynamics, namely destructive and degenerative changes of cardiomyocytes with loss of their special characteristics, as a result of doxorubicin are not only local, but also diffuse, markers which is a violation of the functional aspect of automaticity, conduction heart and rapidly progressive heart failure.

Вступ. Відомо про високу кардіотоксичність антрациклінового антибіотику доксорубіцину (Д), який широко застосовується для лікування злоякісних новоутворень [3,8]. У зв'язку із цим антрациклінові антибіотики викликали великий інтерес дослідників для вивчення патогенезу серцевої недостатності [9,9]. Розвиток антрациклінової кардіоміопатії базується на дегенеративно-дистрофічних змінах кардіоміоцитів, які, за думками багатьох дослідників, мають неспецифічний характер [5]. Незважаючи на те, що патологічні явища в міокарді описані достатньо, в літературі існують різні погляди щодо їх локалізації, розповсюдженості, динаміки та зв'язків їх з функціональними характеристиками серця [1].

Метою роботи було дослідження динаміки патологічних змін структур серця за умов експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведені на 60 щурах-самцях лінії Вістар, віком 6-8 місяців та вагою 180-220 г. Тварини були поділені на 2 групи: контрольна (n=30) та експериментальна (n=30). Кардіоміопатію моделювали шляхом внутрішньоочеревинного п'ятикратного з інтервалом в один тиждень введення розчину доксорубіцину із розрахунку 5 мг/кг [2]. Тваринам контрольної групи вводили внутрішньоочеревинно у відповідні терміни 0,9% розчин NaCl [6]. Усі досліди проводили на 1, 7, 14, 21 та 28 добу після закінчення введення Д. У визначені терміни спостереження щурам проводили електрокардіографічне (ЕКГ) дослідження з наступним виведенням з експерименту шляхом передозування розчином тіопенталу. У евтаназованих тварин вилучали серце для подальшого патоморфологічного дослідження. Після отримання лінійно-вагових характеристик (довжина, ширина, товщина (мм) та вага (мг) серця) проводили розтин порожнини «за током крові» та вимірювали в середній третині шлуночків товщину стінок. Після цього за стандартною методикою проводили патогістологічне дослідження з забарвленням мікроскопічних зрізів гематоксилін-еозином [4].

Усі експерименти були проведені відповідно до існуючих міжнародних вимог і норм гуманного відношення до тварин (Конвенція Ради Європи від 18.03.1986 р.; Закон України від 21.02.2006 р. №3447-IV), що затверджено на засіданні комісії з питань біомедичної етики ДЗ «ДМА МОЗ України» (протокол № 5 від 01.04.13).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з урахуванням критерію Ст'юдента і достовірними вважали відмінності середніх арифметичних при $p \leq 0,05$ [6].

Результати дослідження та їх обговорення. У відповідності до мети роботи, а саме для визначення динаміки патологічних змін доксорубіцинової кардіоміопатії у тварин, перед виведенням з експерименту, реєстрували ЕКГ.

Узагальнюючи дані, отримані за результатами ЕКГ, в групі тварин з доксорубіциновою кардіоміопатією на всіх термінах спостереження були виявлені порушення автоматизму - сповільнення скорочень серця (брадикардія), зареєстровано порушення провідності у вигляді передсердно-шлуночкових блокад I ступеню з достовірним подовженням інтервалу P-Q та повних поперекових блокад.

Окрім цих змін на ЕКГ фіксували в майже усіх експериментальних тварин зміщення сегменту S-T та подовження Q-T та S-T інтервалів, що також є свідченням електричної нестабільності.

При порівнянні кардіометричних параметрів нами було встановлене достовірне зростання лінійних та вагових величин сердець після введення доксорубіцину (таблиця 1).

Таблиця 1.

Лінійно-вагові характеристики сердець щурів у динаміці розвитку доксорубіцинової кардіоміопатії.

Показники	Вага серця, мг	Довжина серця, мм	Ширина серця, мм	Товщина серця, мм	Товщина ЛШ, мм	Товщина ПШ, мм
контроль	1052±83,4	17,2±0,4	4,2±0,7	8,2±0,7	3,1±0,2	0,96±0,05
1 доба Д	1432±96,3*	18,4±0,4*	13,6±0,6*	10,2±0,7*	3,9±0,3*	1,08±0,06*
7 доба Д	1416±98,5*	18,0±0,4*	12,8±0,7*	10,4±0,4*	3,9±0,2*	1,08±0,04*
14 доба Д	1374±86,6*	17,4±0,2*	12,2±0,8*	10,0±0,3*	3,7±0,2*	1,04±0,02*
21 доба Д	1403±61,8*	17,9±0,3*	12,9±0,5*	10,1±0,4*	3,8±0,2*	1,06±0,03*
28 доба Д	1395±62,2*	17,7±0,3*	12,5±0,5*	10,2±0,2*	3,8±0,1*	1,06±0,02*

* - достовірні відмінності між контрольною та експериментальною групою тварин при $p \leq 0,05$.

Проаналізувавши отримані данні, можна сказати, що різке, в порівнянні з контролем, збільшення всіх параметрів серця, що наведені в таблиці 1, спостерігаються в 1 добу після останнього введення Д. Це пов'язано з набряком міокарду, що розвинувся в результаті гострого запалення. В наступні терміни запальний процес згасав. Про це свідчило поступове зменшення лінійно-вагових характеристик міокарду (табл. 1).

Про ознаки запалення свідчили і данні патогістологічного дослідження. Так, дослідження структури міокарду лівого шлуночка (ЛШ) сердець щурів експериментальної групи на 1 добу спостереження (рис.1) показали наявність у всіх

шарах вогнищевих та дифузних ділянок з деструктивно-некротичними змінами в кардіоміocyтах, навколо яких виявлялися значні поля клітинної інфільтрації (рис.1).

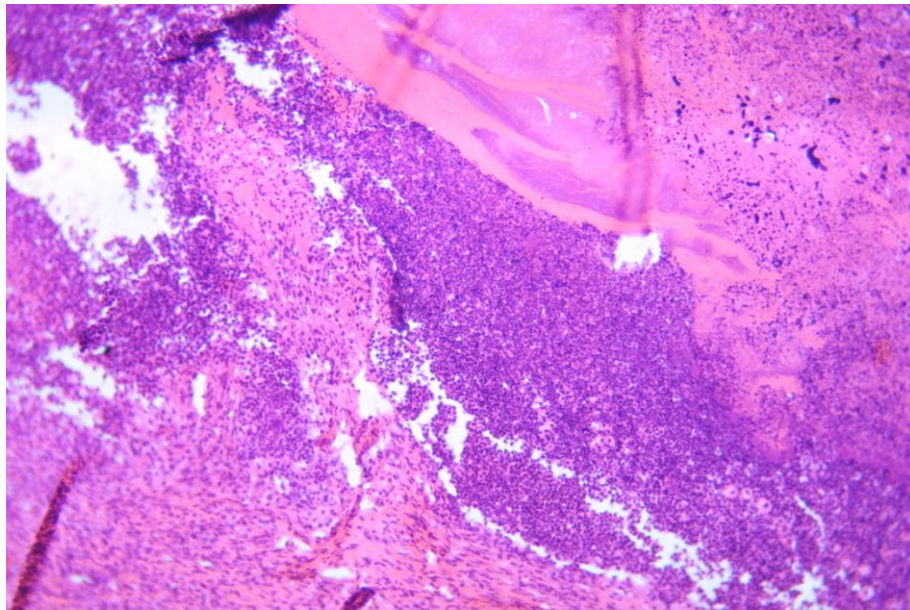


Рис.1. Гістологічний зріз міокарду ЛШ щура на 1 добу. Забарвлення гематоксилін-еозин. Збільшення x 100.

Поряд зі структурними змінами були різко виражені гемодинамічні розлади переважно у вигляді нерівномірного кровонаповнення артеріальних, венозних судин вінцевої системи та місцями зі стазами переважно в капілярній ланці.

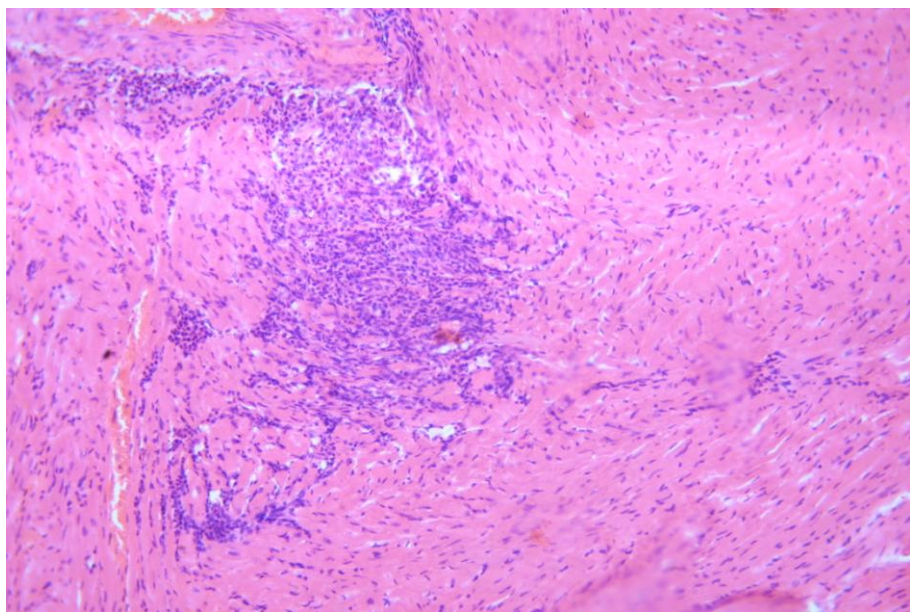


Рис.2. Гістологічний зріз міокарду ЛШ щура на 42 добу після початку експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозин. Збільшення x 100.

В наступних термінах спостереження, а саме на 7-у та 14-у добу, зберігалися вогнищеві ділянки міжм'язових крововиливів та явища стромального набряку (рис.2). Навколо некротичних ділянок спостерігали скупчення лейкоцитарно-лімфогістіоцитарних інфільтратів (рис.2).

На 21-у та 28-у добу експерименту спостерігали значне зменшення інтерстиціального набряку, вздовж ділянок демаркацій з'являлися рихлі сполучнотканинні тяжі (рис.3). На місцях лейкоцитарного детриту зустрічали темно-фіолетового кольору включення неправильної форми, що може вказувати на відкладання кальцію. Характерними особливостями на цих етапах дослідження було виявлення у всіх полях зору кардіоміоцитів з явищами гідропічної дистрофії (рис.3).

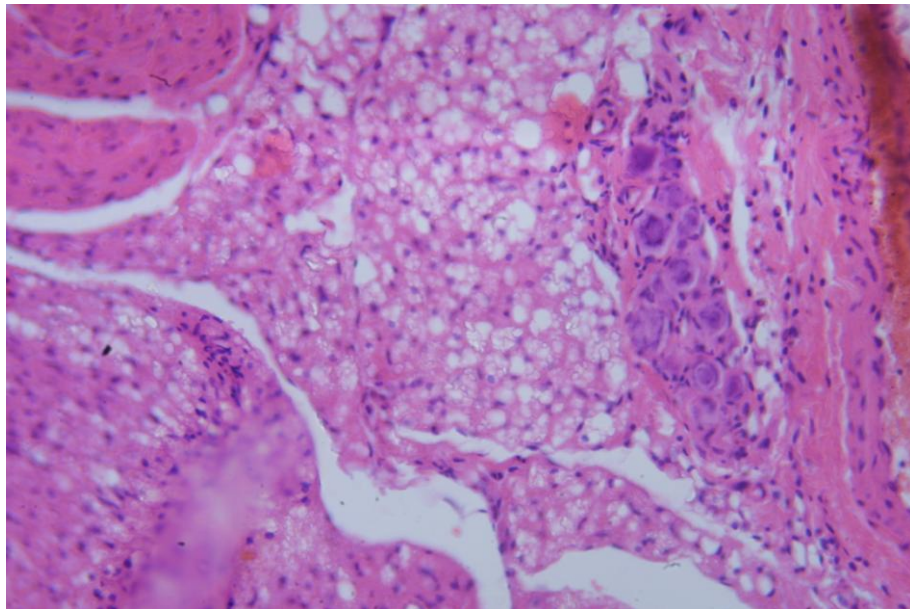


Рис.3. Гістологічний зріз міокарду ЛПШ щура на 27 добу після початку експерименту. Забарвлення гематоксилін-еозин Збільшення x 100.

Виявлені нами та простежені упродовж чотирьох тижнів після останнього введення доксорубіцину патологічні зміни в серці, що були підтверджені як функціональними, так і морфологічними методами дослідження, свідчать про розвиток в міокарді незворотніх явищ зі швидким їх прогресуванням.

Висновок. Незворотні ушкодження міокарду, що простежені нами в динаміці, а саме деструктивно-дегенеративні зміни кардіоміоцитів із втратою ними

спеціалізованих ознак, внаслідок дії доксорубіцину мають не тільки локальний, але й дифузний характер, маркерами яких в функціональному аспекті є порушення автоматизму, провідності серця та швидко прогресуюча серцева недостатність.

Перспективи подальших досліджень: планується дослідження змін функцій головного мозку в динаміці розвитку порушень міокарду за умов введення доксорубіцину.

Список використаних джерел:

1. Вплив рубоміцину гідрохлориду на показники гемодинаміки у кролів / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, І. В. Ніженківська [та ін.] // Ліки. — 2003. — № 5—6. — С. 88—89.
2. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации / под. ред. А. В. Стефанова. — Киев : Авиценна, 2002. — 568 с.
3. Калинкина Н. В. Повреждения сердца антрациклинами: частота и факторы риска // Український медичний часопис. — Т. 16, № 2. — 2000. — С. 25—29.
4. Коржевский Д. Э. Основы гистологической техники / Кожевский Д. Э., Гиляров А. В. — Спб. : СпецЛит, 2010. — 95 с.
5. Индуцированная антрациклинами кардиотоксичность: механизмы развития и клинические проявления / М. Г. Матяш, Т. Л. Кравчук, В. В. Высоцкая [и др.] // Сибирский онкологический журнал. — 2008. — Т. 30, № 6. — С. 66-75.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. — Киев: «Морион», 2001. — 408 с.
7. Родинський О. Г. Поведінкові розлади у щурів на фоні експериментальної хронічної міокардіальної дисфункції / О. Г. Родинський, Ю. В. Козлова // Медичні перспективи. — 2014. — Т. 19, № 3. — С. 10—14.
8. Семенова А. И. Кардио- и нейротоксичность противоопухолевых препаратов (патогенез, клиника, профилактика, лечение) / А. И. Семенова // Практическая онкология. — 2009. — Т. 10, № 3. — С. 168—176.

9. An integrated characterization of serological, pathological, and functional events in doxorubicin-induced cardiotoxicity / L. Cove-Smith, N. Woodhouse, A. Hargreaves [et al.] // *Toxicol Sci.* — 2014. — Vol. 140, №1. — P. 3—15.
10. Kumar S. N. Analysis of proteome changes in doxorubicin-treated adult rat cardiomyocyte / S. N. Kumar, E. A. Konorev, D. Aggarwal, B. Kalyanaraman // *J. Proteomics.* — 2011. — Vol. 74, № 5. — P. 683—697.

Referens.

1. Chekman I.S., Gorchakova N.O., Nizhenkivs'ka I.V., Nagorna O.O., Mincer V.O., Trofimova T.S., Vygivs'ka O.A. Effect of rubomicin hydrochloride on hemodynamic parameters in rabbits. *Medicine.* 2003. 5-6, 88-89.
2. Cove-Smith L., Woodhouse N., Hargreaves A., Kirk J., Smith S., Price S.A., Galvin M., Betts C.J., Brocklehurst S., Backen A., Radford J., Linton K., Roberts R.A., Schmitt M., Dive C., Tugwood J.D., Hockings P.D., Mellor H.R. [An integrated characterization of serological, pathological, and functional events in doxorubicin-induced cardiotoxicity]. *Toxicol Sci. U S A.* 2014, 140 (1), 3-15.
3. Kalinkina N.V. Damage to the heart anthracyclines: incidence and risk factors. *Ukrainian Medical Journal.* 2000, 16 (2), 25-29.
4. Korzhevskij D.Je., Giljarov A.V. *Osnovy gistologicheskoy tehniki* [Fundamentals of histological techniques]. Saint-Petersburg, SpecLit, 2010. 95 p.
5. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich. *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s ispol'zovaniem Excel* [Statistical methods in biomedical research using Excel]. Kiev. Morion, 2001. 408 p.
6. Matjash M.G., Kravchuk T.L., Vysockaja V.V., Chernov V.I., Gol'dberg V.E. Anthracycline induced cardiotoxicity: mechanisms of development and clinical manifestations. *Siberian Journal of Oncology.* 2008, 30 (6), 66-75.
7. Rodyns'kyj O.G., Kozlova Ju.V. Behavioral disorders in rats on a background of chronic experimental myocardial dysfunction. *Medical Perspectives.* 2014, 19 (3), 10-14.
8. Semenova A.I. Cardio- and neurotoxicity of anticancer drugs (pathogenesis, clinical, prevention, treatment). *Practical Oncology.* 2009, 10 (3), 168-176.

9. Stefanov A.V. *Doklinicheskie issledovanija lekarstvennyh sredstv: metodicheskie rekomendacii* [Preclinical studies of drugs: guidelines]. Kiev, Avicenna, 2002. 568 p.